



AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SUCO DO FRUTO DE *PHYSALIS ANGULATA L.* – *SOLANACEAE* SOBRE ERITRÓCITOS HUMANOS EXPOSTOS AO HERBICIDA 2,4-D

SOARES, Jéssica C¹; HORN, Roberta C²; MANFIO, Candida E³; GOLLE, Diego P²; KOEFENDER, Jana²; BORTOLOTTI, Josiane W³.

Palavras-chave: Physalis. Suco. 2,4-D. ERs.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de *Physalis* tem se difundido devido ao baixo custo de implantação, tornando sua produção acessível aos produtores devido à boa adequação da planta. (POLTRONIERI, 2003). A *Physalis angulata* é conhecida popularmente como Camapú, sendo utilizada empiricamente para vários fins terapêuticos (LOPES *et al*, 2005).

A contaminação ambiental ocasionada pelo uso crescente e indiscriminado de pesticidas tem gerado uma série de preocupações quanto ao comportamento destes, seja no ambiente ou sua influência negativa à saúde humana. (CAMPOS & VIEIRA, 2002). O Ácido 2,4-Diclorofenoxiático (2,4-D) é classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Organização Mundial da Saúde (World Health Organization – WHO) como herbicida hormonal de toxicidade II. (JUNIOR *et al*, 2003).

As espécies reativas (ERs) agem como verdadeiros agentes oxidantes promovendo reações com substratos biológicos podendo acarretar danos à biomoléculas como membrana celular e proteínas, afetando a saúde humana. (PEREIRA, 1996). Em contrapartida, os antioxidantes mesmo em baixas concentrações são capazes de inibir ou atrasar as taxas de oxidação. (MAXWELL, 1995). A patogênese de várias doenças como aterosclerose, diabetes, Alzheimer, câncer, entre outros é influenciada por distúrbios do equilíbrio entre formação e remoção de ERs no organismo. (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante em eritrócitos expostos ao 2,4 – D e tratados com o suco de *Physalis angulata*.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina, Universidade de Cruz Alta-RS. PROBITI-FAPERGS. E-mail: jessica93soares@hotmail.com

² Professor CCSA, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: rcattaneo@unicruz.edu.br

³ Pós doutoranda graduada em Agronomia, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: candidamanfio@gmail.com



2 METODOLOGIA

Produção do suco e 2,4-D

Foi realizada a maceração dos frutos frescos, seguido de diluição em água nas concentrações de 50g/L, 100g/L e 250g/L. A preparação do 2,4-D foi realizada conforme Rodrigues & Almeida (2005).

Processamento das amostras

As amostras de sangue foram obtidas a partir de doze doadoras saudáveis, idade entre 20-40 anos, não fumantes, não etilistas e que não ingeriram nenhum tipo de medicamento ou alimento que pudesse interferir nos resultados do estudo. Após assinarem o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido), o sangue total foi coletado após jejum de no mínimo 4 horas por punção endovenosa, utilizando vacutainers contendo EDTA. As amostras foram centrifugadas imediatamente e os plasmas removidos. Os eritrócitos foram lavados com solução salina isotônica, segundo Catalgol et al. (2007) com adaptações. O hematócrito foi diluído a 5% e as suspensões de eritrócitos divididas em cinco grupos distintos, com amostras de um mesmo paciente: Grupo A: controle; Grupo B: eritrócitos expostos ao 2,4-D a 1,1 mg/L; Grupo C: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco a 50g/L; Grupo D: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco a 100g/L; Grupo E: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco a 250g/L). Após a exposição e tratamento as suspensões de eritrócitos à hematócrito 5 % foram agitadas em vórtex a fim de provocar a lise de membranas celulares, seguido de centrifugação e separação do sobrenadante para a realização das dosagens bioquímicas. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta no ano de 2013, conforme anexo (protocolo número 15510413.3.0000.5322).

Determinação de glutathiona reduzida

A determinação dos níveis de GSH foi realizada através da utilização do reagente de cor ácido 5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB), método descrito por Beutler, e modificado pelo método de Ellman (1959).

Análises estatísticas

Os resultados apresentados como média \pm E.P. foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de Tukey-Kramer, considerando diferenças significativas com $P < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

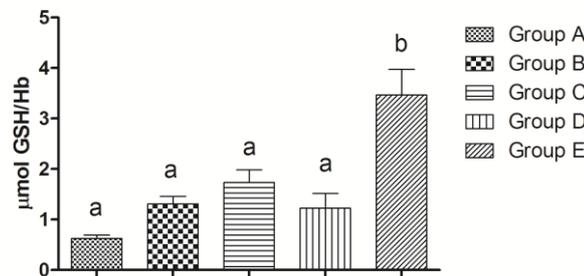
A elevação de GSH ocorre quando há aumento acentuado de ERs a fim de manter o balanço “redox” do organismo, evitando assim o quadro de estresse oxidativo (LEITE &



SARNI, 2003). Os resultados do presente estudo mostram alterações significativas na atividade enzima glutatona reduzida (GSH) no grupo tratado com 250g/L (E) de suco de *Physalis angulata* (Figura 1). Desta forma, é possível sugerir que o aumento de GSH, na maior dosagem do suco, pode estar ocorrendo devido à alta geração de ERs pela exposição ao herbicida 2,4-D e ao suco de *physalis*.

Figura 1: Atividade da enzima glutatona reduzida ($\mu\text{mol GSH/mg Hb}$) nos eritrócitos de humanos. Grupo A: controle; Grupo B: eritrócitos expostos ao 2,4-D a 1,1 mg/L; Grupo C: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco de *Physalis* a 50g/L; Grupo D: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco de *Physalis* a 50g/L; Grupo E: eritrócitos expostos ao 2,4-D + suco de *Physalis* a 250g/L).

Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes, considerando um $P < 0,05$.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, os resultados do estudo mostram aumento de GSH na concentração de 250g/L, indicando que o suco de *physalis angulata* nessa concentração causa danos se comparados à concentração de 50g/L 100g/L do suco e a exposição ao próprio herbicida 2,4-D. Estudos realizados por Sampaio *et al* (2012) mostram que a genotoxicidade de extratos é dose dependente, desta forma é possível sugerir que o mesmo ocorra com os sistemas oxidante e antioxidante nos eritrócitos, necessitando de maiores estudos para elucidação.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRADBERRY, S.M.; WATT, B. E.; PRODFOOT, A. T.; VALE, J. A. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. **Journal of Toxicology - Clinical Toxicology**. v. 38, p. 111-122, 2000.

CADENAS, E; DAVIES, K. J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radical Biology & Medicine**. v 29, p 222-230, 2000.



CAMPOS, S. X; VIEIRA, E. M. Estudo da degradação do herbicida ácido 2,4 – Diclorofenoxiacético (2,4-D) por meio da radiação gama do cobalto-60 em solução aquosa contendo ácido húmico. **Química Nova**. v 25, p 529-532, 2002.

CATALGOL, B. K.; OZDEN, S.; ALPERTUNGA, B. Effect of trichlorfon on olondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. **Toxicology In Vitro**. v 21, p. 1538-44, 2007.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v.82, p.70-77, 1959.

JUNIOR, O. P. A; SANTOS, T. C. R; NUNES, G. S. Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida ácido 2,4- Diclorofenoxiacético (2,4-D). **Química Nova**. v 26, p 223-229, 2003.

LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição**. v 18, p 87-94, 2003.

LOPES, D. C. D. X. P; SANTOS, E. P; TOMASSINI, T. C. B. Atividade anti-séptica de formulações contendo extrato etanólico de frutos de *Physalis angulata* L. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 2005.

MAXWELL, S.R.J. Prospects for the use antioxidant therapies. **Department of Medicine**. v.49, p.345-361, 1995.

PEREIRA, B. Radicais livres de oxigenio e sua importancia para a funcionalidade imunologica. **Motriz**. v. 2, p. 71-79, 1996.

POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. In: Seminário Brasileiro sobre pequenas frutas. **Anais Bento Gonçalves**. p 37-40, 2003.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de Herbicidas**, Ed 5. Editora: Londrina. p 592, 2005.

SALVADOR, M; HENRIQUES, J. A. P. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. **ULBRA**. p. 27, 2004.

SAMPAIO, J *et al.* Estudo da genotoxicidade in vitro e in vivo após exposição aguda e subcrônica de extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil obtidos por infusão. **Revista Brasileira de Biociências**, 2012.